原著

ORIGINAL ARTICLE

コラーゲン誘発性関節炎マウスに対する LED 照射の抗炎症作用

久保山 昇^{1,4}, 多田 充裕^{2,4}, 佐藤 裕介¹, 安孫子 宜光^{3,4}¹ 日本大学 松戸歯学部 薬理学講座² 日本大学 松戸歯学部 歯科総合診療学講座³ 日本大学 松戸歯学部 生化学・分子生物学講座⁴ 日本大学 松戸歯学部 口腔科学研究所

(平成 23 年 10 月 6 日受理, 平成 24 年 3 月 8 日掲載決定)

Anti-inflammatory Activities of Light Emitting Diode Irradiation
on Collagen-induced Arthritis in MiceNoboru Kuboyama^{1,3}, Mitsuhiro Ohta^{2,4}, Yusuke Sato¹, Yoshimitsu Abiko^{3,4}¹Department of Pharmacology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo²Department of Oral Diagnosis, Nihon University School of Dentistry at Matsudo³Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo⁴Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

(Received October 6, 2011, Accepted March 8, 2012)

要 旨

Collagen 誘発性関節炎(CIA)マウスを用いて, 発光ダイオード(LED)照射による抗炎症作用を検討した. CIA マウスは, 抗原としてウシⅡ型 collagen と完全アジュバントを乳化させたエマルジョンを背部皮内に免疫し作製した. 動物は 1 群 5 匹とし, 対照群, CIA 群, CIA マウスに LED 照射したマウスを LED 群とした. LED 群は, 波長 570 nm (LED-570) および波長 950 nm (LED-940), 照射時間 500 秒としそれぞれ総照射エネルギー密度は 5 J/cm² で 1 週間に 3 回, 8 週間 膝関節部位に照射した. 関節炎の腫脹は, 後肢足蹠の厚さにより評価した. 血清中炎症性サイトカインと MMP-3 は, ELISA を用いて測定した. CIA 発症後 4 週目の LED-570, LED-940 群の腫脹抑制率は, 18.1±4.9%, 29.3±4.0 % を示した. LED-940 照射は, CIA マウスの血清中 IL-1β, IL-6 および MMP-3 の上昇を有意に抑制した.

キーワード: 発光ダイオード, collagen 誘発性関節炎マウス, 足蹠腫脹, 炎症性サイトカイン, MMP-3

Abstract

The present investigation was carried out to study the anti-inflammatory activities of light emitting diode (LED) irradiation on hind paw inflammation in mice collagen-induced arthritis (CIA) models. CIA mice was induced by immunization of DBA/1J mice with intradermal injection of an emulsion of bovine type II collagen and complete Freund's adjuvant. The mice were subdivided into the following groups: control group, CIA group and LED irradiated CIA mice (LED groups) (n=5). LED groups were applied on mouse knee joint area and was irradiated three times weekly for 8 weeks in LED (570 nm, 940 nm) at a dose of 5 J/cm² for 500 s, respectively. The hind paw swelling was assessed by the increase in hind paw thickness. The serum levels of the inflammatory cytokines and arthritic factor MMP-3 were determined by ELISA. In LED-570, and LED-940 groups at 4weeks after arthritis

induction, swelling inhibition index was 18.1 ± 4.9 , 29.3 ± 4.0 respectively. IL-1 β , IL-6 and MMP-3 serum levels were significantly lower in LED-940 groups.

Key words : light emitting diode (LED), collagen-induced arthritis mice, hind paw swelling, inflammatory cytokines, MMP-3

1. 緒言

関節リウマチ (rheumatoid arthritis; RA) は、多発性の関節炎を主症状とする疾患で、病態の進行に伴い関節滑膜組織に増殖性炎症が誘導される。増殖した肉芽組織 (パノス) からは、炎症性サイトカインや MMP-3 などの組織破壊性因子が過剰産生して、関節軟骨や骨を侵食・破壊を引き起こす自己免疫疾患である¹⁻³⁾。この疾患の発病には、腫瘍壊死因子- α (TNF- α) やインターロイキン 6 (IL-6) のような炎症性サイトカイン類が関与していることが報告されている^{4,5)}。

RA に対する光線治療として、すでに我々は Collagen 誘発性関節炎 (Collagen-induced arthritis; CIA) ラットを用いて、直線偏光近赤外線 (linear polarized near-infrared; NIR) および自由電子レーザー (free electron laser; FEL) 照射による抗リウマチ作用を検討し、NIR および FEL 照射はラット後肢足蹠の腫脹と踵骨の骨吸収および骨糜爛を抑制した。また、血清中炎症性サイトカインおよび MMP-3 濃度の上昇を有意に抑制することを報告し、NIR および FEL 照射はヒト RA モデルの CIA ラットに対して有効であることを明らかにした^{6,7)}。

一方、近年発光ダイオード (LED) は、光線作用によって組織血流の改善、アトピー性皮膚炎および色素沈着の予防・改善、創傷治癒の促進や細胞内のミトコンドリアを刺激して細胞増殖などが認められている⁸⁻¹⁰⁾。Xavier らは Collagen 誘発性アキレス腱損傷モデルラットを用いて、LED 照射 (波長 880 nm, 照射時間 170 秒間, 総照射エネルギー密度 7.5 J/cm^2 , 照射期間 2 週間) を行い、炎症性細胞と炎症性サイトカイン発現はいずれも LED 照射によって減少したことを報告している¹¹⁾。Zymosan を膝関節内に投与して惹起する関節炎ラットに対して、血管透過性の亢進や痛覚過敏を低出力レーザー (low level laser: LLL) は抑制したのに対して、LED (波長 628 nm) 照射は効果が認められなかった¹²⁾。また、*in vitro* の実験系で LED (波長 635 nm) 照射は、ヒト歯肉線維芽細胞にアラキドン酸刺激により惹起する PGE₂, COX および PLA₂ 遺伝子発現を抑制した¹³⁾。LED 光線治療をさらに推進するためには、既存のレーザーと LED 照射による生体内での相互作用や修飾作用の違いを明らかにする必要がある。

本研究では、NIR および FEL 照射による抗炎症作用と比較するために、照射時間 (500 秒) と総照射エネルギー密度 (5 J/cm^2) を同様にして、ヒト RA の動物モデルとして広く汎用されている CIA マウス¹⁴⁻¹⁶⁾ を用いて、LED 照射の抗炎症作用を検討した。

2. 材料および方法

2.1 実験動物

実験動物は、5 週齢の DBA/1 LacJ 雄性マウス (日本チャールス・リバー (株)) を使用した。飼育は室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ 、12 時間ごとの明暗サイクルの環境下で、飼料は固形飼料 (MF[®], オリエンタル酵母工業 (株)) を、飲料水は濾過水道水をそれぞれ自由摂取させた。1 週間予備飼育した後、一般状態の観察および体重測定を行い、順調に発育した体重 $14.6 \pm 1.1 \text{ g}$ の動物を使用した。なお、本実験は日本大学松戸歯学部実験動物倫理委員会の承認を得、日本大学松戸歯学部実験動物指針に基づいて行った。

2.2 CIA マウスの作製

CIA マウスの作成は、6 週齢の DBA/1 LacJ 雄性マウスに初回感作として、抗原としてウシ II 型 collagen 0.8 mg と Freund's Complete Adjuvant を 1:1 に懸濁したエマルジョンを、ラット背部皮内に 0.05 ml を 10 カ所に投与した。その後、尾根部に同エマルジョン 0.05 ml を 2 回追加免疫して関節炎を発症させた (Fig.1 (a), (b))。

2.3 LED の照射条件

LED 照射装置 (Panasonic 社製) を使用して、LED 照射ビームとマウス膝関節の距離は 20 mm、照射エリアはマウス膝関節を中心にして直径 15 mm の均一な照射野、波長 570 nm および波長 940 nm、照射時間 500 秒間、連続照射時の総照射エネルギー密度は 5 J/cm^2 の条件で行った。

Fig.1 (a) Observation of hindpaw in normal mice.
(b) Observation hindpaw swelling in CIA mouse at 8 weeks after the start of collagen immunization.

Fig.2 LED irradiation system image of CIA mouse.

た。この条件でLED照射した時の温度を測定したところ、 0.5°C 以下の無視できる温度上昇であった。実験期間を8週間として、ペントバルビタールナトリウム (35 mg/kg) を腹腔内に投与し、全身麻酔下でマウス膝関節部位を中心に1週間に3回合計24回照射した (Fig.2)。

2.4 関節炎の評価

マウス後肢足蹠の腫脹は、週1回実体顕微鏡を用いて、足蹠の側面から両側後肢の足蹠の厚さを計測し、腫脹率および腫脹抑制率を求め平均値を算出して評価した。

2.5 実験方法

動物は、最終感作2週間後に腫脹率が50%以上のCIAマウスを1群5匹とし4群に分け、CIAマウスをCIA群、CIAマウスに波長570 nmおよび波長940 nmを1週間に3回8週間、1回500秒LED照射したマウスをそれぞれLED-570群、LED-940群とした。また、全くの無処置を対照群とした。実験期間中は、動物の一般状態を観察し、週1回体重および後肢足蹠の厚さを測定した。

2.6 炎症性サイトカインおよびMMP-3濃度

LED照射8週目に、マウスの外頸静脈から採血し、血清のみを採取した。血清中の炎症性サイトカイン濃度 ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6) は、ELISA kit (R & D System) を用いて測定した。リウマトイド因子であるMMP-3 (matrix metalloproteinase-3) 濃度は、Assay kit (Cosmo Bio) を用いて4-アミノフェニール水銀酢酸による活性化法にて励起波長 (330 nm)、蛍光波長 (395 nm) で蛍光強度を測定して算出した。

2.7 統計学的処理

実験結果は、平均値 $\pm$ 標準偏差 ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) で表した。対照群、CIA群とLED-570群、LED-940群の各群の比較にはTukeyの多重比較検定を行った。危険率5% ($p < 0.05$) 未満を統計学的に有意な変化として判定した。

3. 結果

3.1 体重変化

体重変化を、Fig.3に示した。実験開始時の各群の平均体重は $14.6 \pm 1.1\text{ g}$ で、初回collagen感作後第2, 3,

4群は徐々に体重減少が認められ、初回感作4週目には対照群 ($24.9 \pm 3.5\text{ g}$) と比較するとcollagen感作群は $18.2 \pm 3.8\text{ g}$ と有意 ($p < 0.01$) に体重減少を示した。実験終了時、対照群は $30.6 \pm 3.2\text{ g}$ に対して、それぞれ $22.7 \pm 4.1\text{ g}$ ($p < 0.01$), $24.8 \pm 4.7\text{ g}$ ($p < 0.05$), $25.6 \pm 4.2\text{ g}$ ($p < 0.05$) と有意に体重減少を示した。ただし、CIA群およびLED群間では平均体重に有意の差は認められなかった。

3.2 CIAマウスの足蹠腫脹

CIAマウスの後肢足蹠腫脹率の経時的变化を、Fig.4 (a) に示した。実験開始時の各群の平均足蹠の厚さは $1.57 \pm 0.08\text{ mm}$ で、collagen初回感作後2, 4週の腫脹率は、それぞれ $37.4 \pm 4.6\%$ ($2.17 \pm 0.27\text{ mm}$), $57.6 \pm 7.4\%$ ($2.50 \pm 0.32\text{ mm}$) と足蹠は急激に腫脹した。また、実験には、マウスの足蹠腫脹率が50%以上の動物をCIA発症マウスとして使用した。LED照射後2週目の腫脹率は、CIA群で $56.2 \pm 7.3\%$, LED-570, LED-940群はそれぞれ $48.6 \pm 7.2\%$, $44.1 \pm 5.5\%$ を示した。

腫脹抑制率を、Fig.4 (b) に示した。CIA群に対してLED-570, LED-940群の腫脹抑制率は2週目で、それぞれ $13.5 \pm 2.1\%$, $21.6 \pm 2.7\%$, 4週目で、 $18.1 \pm 4.9\%$, $29.3 \pm 4.0\%$, 8週目で $17.2 \pm 3.7\%$, $23.8 \pm 3.1\%$ を示し、4週目のLED群の腫脹抑制率が最も高値を示した。また、LED-940群はLED-570と比較すると1, 4および8週目で有意な腫脹抑制率を示した。

Fig.5, Fig.6にLED照射8週目の対照群、CIA群、LED-570およびLED-940群の後肢足蹠部位を示した。関節炎はcollagen2回目感作後から認められ、複数の関節が腫脹したが後肢の足根関節の肥大が最も顕著で、LED群は、CIA群と比較すると肉眼的にも明らかに後肢足蹠の発赤・腫脹が軽度であった。

Fig.3 Changes in body weight on LED irradiation in collagen-induced arthritis mice. Data were shown as the mean $\pm$ S.D. of 5 animals in each group. **: $p < 0.01$, vs. control group.

Fig.4 (a) Effects of LED irradiation on hind paw swelling index in CIA mice. Data were shown as the mean $\pm$ S.D. of 5 animals in each group.
*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ vs. CIA group.
(b) Effects of LED irradiation on swelling inhibition in CIA mice. Data were shown as the mean $\pm$ S.D. of 5 animals in each group.

Fig.5 Photograph of hind paw in CIA mice at 8 weeks after arthritis induction.

Fig.6 Photograph of sole print in CIA mice at 8 weeks after arthritis induction.

Fig.7 Anti-inflammatory effect of LED irradiation on serum levels of cytokines in CIA mice at 8 weeks after arthritis induction. (a): TNF- α , (b): IL-1 β , (c): IL-6, (d): MMP-3. Data were shown as the mean $\pm$ S.D. of 5 animals in each group. *: $p<0.05$, **: $p<0.01$ vs. CIA group.

3.3 炎症性サイトカインおよび MMP-3 濃度

LED 照射 8 週目の TNF- α 濃度は、対照群で 1.7 ± 0.3 pg/ml に対して、CIA 群は 6.8 ± 2.2 pg/ml ($p<0.001$) を示した。CIA 群と比較すると LED-570, LED-940 群はそれぞれ 5.8 ± 1.9 , 4.6 ± 1.3 ($p<0.05$) pg/ml を示した (Fig.7 (a))。IL-1 β 濃度は、対照群は 11.0 ± 1.7 pg/ml に対して、CIA 群は 61.0 ± 13.8 pg/ml と約 6 倍の有意 ($p<0.001$) な上昇を示した。また、LED-570, LED-940 群はそれぞれ 52.6 ± 10.6 ($p<0.05$), 41.3 ± 6.5 ($p<0.05$) pg/ml を示し、CIA 群と比較すると有意に減少した (Fig.7 (b))。IL-6 濃度は、対照群で 5.1 ± 0.8 pg/ml に対して、CIA 群は 38.3 ± 8.1 pg/ml ($p<0.001$) と約 8 倍の上昇を示した。また、LED-570,

LED-940 群はそれぞれ 28.0 ± 5.5 ($p < 0.05$), 24.5 ± 5.1 ($p < 0.01$) pg/ml を示し, CIA 群と比較すると有意に減少した (Fig.7 (c)). MMP-3 濃度は, 対照群で 33.0 ± 6.1 ng/ml に対して, CIA 群は 165.3 ± 44.7 ng/ml を示した. CIA 群と比較すると LED-570, LED-940 群は, それぞれ 120.2 ± 26.3 , 95.1 ± 33.4 ($p < 0.05$) ng/ml を示した (Fig.7 (d)). LED-940 照射は, CIA ラットの血清中炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-1 β , IL-6) および MMP-3 値の上昇を有意に抑制した. ただし, LED-570 群と LED-940 群の間には, いずれの因子も有意な差は認められなかった.

4. 考察

RA の治療法は, 疼痛・炎症反応のコントロールと, 骨関節の破壊を抑制することが必要である. 治療の柱は薬物療法で, 疼痛・炎症反応を抑制する NSAIDs と, 免疫反応を抑制するステロイド剤および抗リウマチ薬が用いられている. 近年, RA 治療には, RA の病態形成で中心的な役割を担う TNF- α を標的とした生物学的製剤 (抗 TNF- α キメラ抗体) が登場して, TNF- α の作用を直接・間接的に強く阻害し, 骨関節破壊の進行を完全に阻止することが明らかになった¹⁷⁾. しかしながら, TNF- α は宿主免疫能力を減弱させるため, 種々の感染症をはじめとする重篤な副作用が報告されている¹⁸⁾. 強い免疫抑制作用のある抗 TNF- α 製剤の投与は, B型肝炎ウイルスに感染し治癒した人が, ウイルスが再活性化して再発し, 劇症肝炎を起こして死亡することも明らかになった¹⁹⁾. したがって, 安全性も含めて副作用の少ない効果的な治療法が求められている.

一方, DBA/1J マウスにウシ II 型 collagen を感作して作製した CIA マウスは, ヒトのリウマチ性関節炎の動物モデルとして, RA 患者にきわめて類似した関節炎を発症し, 血清中に II 型 collagen に対する抗体が出現して自己免疫疾患の症状を示す^{14,15,20)}. さらに, 滑膜細胞の増殖と骨・軟骨の破壊と破骨細胞の活性化が見られ, 様々なサイトカインの関与もヒト RA に酷似している. 本実験でも, CIA マウスは, collagen 感作後に関節炎が発症し, 発症部位は主に足関節や足趾で, ヒト RA と類似した腫脹, 発赤, 発熱などの肉眼的所見を呈した.

この CIA マウスに, LED 照射すると, 4 週目の腫脹抑制率は LED-570, LED-940 群それぞれ $18.1 \pm 4.9\%$, $29.3 \pm 4.0\%$ を示し, 4 週目の腫脹抑制率が最も高値を示した. LED-940 群は有意に高い腫脹抑制率 ($p < 0.001$) を示した. これは, 波長 940 nm は波長 570 nm より長波長であるため, 生体深達度の高い波長帯で, 表皮・真皮を透過して深部組織および関節の血液循環に影響を及ぼしている可能性が示唆される²¹⁾. また, LED はスペクトル分布において相対放射強度が最大になるピーク発光波長は 950 nm である. 実験に使用した LED の波長 940 nm は, 生物学的反応の波長特性が高いことが示唆される. CIA マウスはパンススから産生された炎症性サイトカインが, 組織および関節内に停滞して足趾部位の炎症反応を惹起しており, これを LED 照射は浸透・散乱しながら組織および関節内循環を改善した結果, 後肢および足趾の腫脹を抑制したことが示唆される. 腫脹抑制率を NIR

および FEL 照射と比較すると, とともに 2 週目が最も高く, それぞれ 39.1 ± 5.2 , 31.0 ± 5.8 を示した.

次に, RA では, 炎症部位で主に活性化マクロファージから産生される炎症性サイトカインが過剰に産生され, 関節炎と破骨細胞の誘導を引き起こす^{4,5,22,23)}. このため, これらの過剰な炎症性サイトカインの産生を抑制することが重要である. 本実験では, CIA 群の TNF- α , IL-1 β および IL-6 濃度の上昇を LED-570 群および LED-940 群ともに抑制した. そして, これらの炎症性サイトカインを産生するマクロファージや滑膜細胞に対して LED 照射が影響を及ぼしていることが示唆される. TNF- α , IL-1 β および IL-6 は RA における骨吸収性サイトカインで, 滑膜線維芽細胞の RANKL 発現や MMP-3 などを誘導し, 破骨細胞分化を促進して関節破壊に関与する²⁴⁻²⁷⁾. また, *in vitro* の培養細胞系では, 我々は, *in vitro* でヒト歯肉線維芽細胞に Ga-Al-As 半導体レーザー (Panalas-1000; 波長 830 nm, 総エネルギー密度 7.9 J/cm^2) を照射すると LPS 刺激で上昇した PGE₂, IL-1 β および PA 産生量をいずれも LLL 照射により有意に抑制することを明らかにした²⁸⁻³⁰⁾. 関節軟骨は主に II 型 collagen, コンドロイチン硫酸を主構成成分とするヒアルロン酸などの細胞外マトリックス成分により構成されており, RA ではこれら細胞外マトリックスの分解亢進による軟骨減少が関節機能の低下につながる³¹⁾.

RA による骨・軟骨破壊には滑膜細胞ならびに関節軟骨の産生する MMP などの細胞外マトリックス分解酵素が大きく関わっている. 従って, RA マーカーである MMP-3 濃度の上昇は, 関節軟骨の破壊に密接に関与している^{2,31-33)}. *In vitro* の実験で, 我々はマウスの骨芽細胞樹立株 MC3T3E1 細胞を用い, LLL (波長 830 nm) 照射により骨結節数・骨総面積およびアルカリホスファターゼ, コラーゲンの産生量を増大させたことを明らかにした³⁴⁾. LED も同様なメカニズムで抗炎症作用および骨吸収抑制を発揮していることが示唆される.

LED 光は, 21 世紀の光源として注目を集め, 表示用でディスプレイ, 交通表示・信号や一般照明用光源などさらに用途が期待されている. 安全性に関しては, LED 光は紫外線 (波長 400 nm 未満) を含まない可視光線 (波長 400 ~ 760 nm) と近赤外線 (波長 760 ~ 1400 nm) で, 波長 400 nm ~ 500 nm の青色 LED 光の暴露により網膜傷害が報告されている^{35,36)}. また, 青色 LED 光 (波長 300 ~ 700 nm) は, 至近距離で直接 LED 光源発光部の像を直視することは避けた方が安全であることが示唆される. 紫外線は表皮角化細胞表面で活性酸素を生成し, サイトカインである TNF- α , IL-1 β および IL-6 を産生し, 真皮細胞・線維を傷害する^{37,38)}. 従って, 本実験では眼および皮膚に傷害性の低い可視光領域の 570 nm と近赤外線領域の 940 nm を選択した. また, NIR, 低出力レーザー, FEL および紫外線と比較すると, LED 光の 1 個当りの光量が低いため, その生体に対する傷害作用は弱いものと思われる.

以上の結果より, LED 照射はヒトの RA に類似した CIA マウスに対して, 足趾腫脹, 血清中炎症性サイトカインおよび MMP-3 濃度の上昇を抑制し, 抗炎症作用を

示し, RA の治療に対して有効であることが示唆される. 今後, LED の特徴を生かして波長の差異による抗炎症作用の違いを解明することによって, レーザー医療の開発に貢献できる.

5. 結論

ヒト RA の動物モデルである CIA マウスに, 波長 570 nm 帯の LED および波長 940 nm 帯の LED を照射し, 後肢足蹠の腫脹の経時の変化, 血清中の炎症性サイトカインおよび MMP-3 濃度を測定し, 以下の結論を得た. ①後肢足蹠の腫脹を抑制した. ②血清中炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-1 β , IL-6) および MMP-3 濃度の上昇を抑制した. 以上の結果から, LED 照射は関節リウマチの炎症反応の抑制に有効であることが示唆された.

参考文献

- MJ. Plant, AL. Williams, JD. Jessop, et al.: Relationship between time-integrated C-reactive protein levels and radiologic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 43: 1473-1477, 2000.
- C. Ribbens, B. Andre, JM. Jaspar, et al.: Matrix metalloproteinase-3 serum levels are correlated with disease activity and predict clinical response in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 27: 888-893, 2000.
- M. Feldmann, FM. Brennan, RN. Maini: Rheumatoid arthritis. *Cell*, 85: 307-310, 1996.
- A. Mor, SB. Abramson, MH. Pillinger: The fibroblast-like synovial cell in rheumatoid arthritis: a key player in inflammation and joint destruction. *Clin Immunol*, 115:118-128, 2005.
- WP. Arend, JM. Dayer: Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 38:151-160, 1995.
- 久保山昇, 多田充裕, 佐藤裕介, 木場秀夫, 伊藤孝訓, 松井大, 梶原浩喜, 馬場正英, 安孫子宜光: 直線偏光近赤外線照射によるcollagen誘発性関節炎ラットに対する抗リウマチ作用. *日本レーザー医学誌*, 31(1): 11-17, 2010.
- 久保山昇, 多田充裕, 境武志, 野上杏子, 中尾圭佐, 早川建, 佐藤勇, 安孫子宜光: 自由電子レーザー照射による関節炎ラットに対する抗リウマチ作用. *日本レーザー医学誌*, 32(2): 108-115, 2011.
- MA. Dall Agnol, RA. Nicolau, CJ. Lima, E. Munin: Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci*, 24: 909-916, 2009.
- WT. Li, YC. Leu, JL.Wu: Red-light light-emitting diode irradiation increases the proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Photomed Laser Surg*, 28: S157-165, 2010.
- HP. Wu, MA. Persinger: Increased mobility and stem-cell proliferation rate in *Dugesia tigrina* induced by 880nm light emitting diode. *J Photochem Photobiol*, 102: 156-160, 2011.
- M. Xavier, DR. David, RA. Souza, R. Albertini, et al.: Anti-inflammatory effects of low-level light emitting diode therapy on achilles tendinitis in rats. *Lasers Surg Med*, 42: 553-558, 2010.
- NC. Morais, AM. Barbo, ML. Zamuner, et al.: Anti-inflammatory effect of low-level laser and light-emitting diode in zymosan-induced arthritis. *Photomed Laser Surg*, 28: 227-232, 2010.
- W. Lim, S. Lee, I. Kim, H. Choi, et al.: The anti-inflammatory mechanism of 635 nm light-emitting-diode irradiation compared with existing COX inhibitors. *Lasers Surg Med*, 39: 614-621, 2007.
- DE. Trentham, AS. Townes, AH. Kang : Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis. *J Exp Med*, 146: 857-868, 1977.
- JS. Courtenay, MJ. Dallman, AD. Dayan, A. Martin, B. Mosedale : Immunisation against heterologous type II collagen induces arthritis in mice. *Nature*, 283: 666-668, 1980.
- Y. Lee, J. Hwang, H. Lee, B. Park, et al.: SPA0355, a thiourea analogue, inhibits inflammatory responses and joint destruction in fibroblast-like synoviocytes and mice with collagen-induced arthritis. *Br J Pharmacol*, 164: 794-806, 2011.
- J. Keane, S. Gershon, RP. Wise, et al.: Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor α -neutralizing agent. *N Engl J Med*, 345: 1098-1104, 2001.
- J. Keane, S. Gershon, RP. Wise, et al.: Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor α -neutralizing agent. *N Engl J Med*, 345: 1098-1104, 2001.
- T. Umemura, K. Kiyosawa: Fatal HBV reactivation in a subject with anti-HBs and anti-HBc. *Inten Med*, 45: 747-748, 2006.
- M. Tsuji, K. Fujii, T. Nakano, Y. Nishii : 1 α -hydroxyvitamin D3 inhibits Type collagen-induced arthritis in rats. *FEBS Lett*, 337: 248-250, 1994.
- 小森万希子: 低出力レーザーおよび直線偏光近赤外線照射の皮膚微小循環に対する効果. *日レ歯誌*, 19: 26-29, 2008.
- FA. Houssiau, JP. Devogelaer, SJ. Van, et al.: Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum*, 31: 784-788, 1988.
- M. Feldmann, FM. Brennan, RN. Maini: Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol*, 14: 397-440, 1996.
- W. Boyle: Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423:337-342, 2003.
- T. Suda : Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev*, 20:345-357, 1999.
- EH. Choy, GS. Panayi: Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 344:907-16, 2001.
- H. Takayanagi: Involvement of receptor activator of nuclear factor κ B ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synovialocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 43:259-269, 2000.
- T. Takema, M. Yamaguchi, Y. Abiko: Reduction of plasminogen activator activity stimulated by lipopolysaccharide from periodontal pathogen in human gingival fibroblast by low-energy laser irradiation. *Laser Med Sci*, 15: 35-42, 1999.
- Y. Sakurai, M. Yamaguchi, Y. Abiko: Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci*, 108: 29-34, 2000.
- K. Nomura, M. Yamaguchi, Y. Abiko: Inhibition of interleukin 1b production expression in gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation. *Lasers Med Sci*, 16: 218-223, 2001.
- I. Ishikawa, F. Nishigaki, S. Mutoh, et al. : Prevention of progressive joint destruction in collagen-induced arthritis in rats by a novel matrix metalloproteinase inhibitor, FR255031.

British J Pharm, 144: 133-143, 2005.

- 32) PS. Burrage, KS. Mix, CE. Brinckerhoff: Matrix metalloproteinases: role in arthritis. Front Biosci, 11:529-543, 2006.
- 33) Z. Han, DL. Boyle, L. Chang, B. Bennett, M. Karin, L. Yang: c-Jun N-terminal kinase is required for metalloproteinase expression and joint destruction in inflammatory arthritis. J Clin Invest. 108: 73-81, 2001.
- 34) Y. Ozawa, N. Shimizu, Y. Abiko, et al.: Low-energy laser irradiation stimulated bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. Bone, 22: 347-354, 1998.
- 35) 小出良平, 植田孝子, WW. Dawson, D. Armstrong: 青色発光ダイオード光による網膜障害. 日眼誌, 105: 687-695, 2001.
- 36) 森圭介, 米谷新, 林直樹, 阿部友厚: 青色光による網膜傷害と眼底の冷却効果. 日眼誌, 101: 633-638, 1997.
- 37) G.J. Fishier, S. Kang, J. Varani, Z. Bata-Csorgo, Y. Wan, S. Datta, JJ. Voorhees: Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. Arch Dermatol, 138: 1462-1470, 2003.
- 38) G. Herrmann, M. Wlaschek, TS. Lange, K. Prezel, G. Goerz, K. Scharffetter-Kochanek: UVA irradiation stimulates the synthesis of various matrix-metalloproteinases (MMPs) in cultured human fibroblasts. Exp Dermatol, 2: 92-97, 1993.

著者紹介

久保山 昇 (Noboru Kuboyama)

1973年, 日本大学理工学部卒業. 1991年日本大学松戸歯学部薬理学講座専任講師. 2007年, 日本大学松戸歯学部口腔分子薬理学講座准教授. 2011年, 日本大学松戸歯学部薬理学講座教授. 現在に至る. 歯科基礎医学会(評議員), 日本薬理学会(評議員).

多田 充裕 (Mitsuhiro Ohta)

1988年, 日本大学松戸歯学部卒業. 1992年, 日本大学大学院松戸歯学研究科博士課程修了(口腔診断学専攻). 2007年より日本大学松戸歯学部歯科総合診療学講座講師. 2011年日本大学松戸歯学部歯科総合診療学講座准教授. 現在に至る. 日本顎関節学会認定医, 日本口腔診断学会指導医.

佐藤 裕介 (Yusuke Sato)

2003年, 日本大学松戸歯学部卒業. 2007年, 日本大学大学院松戸歯学研究科博士課程修了(口腔診断学専攻). 2008年より日本大学松戸歯学部歯科総合診療学講座非常勤講師. 2011年より日本大学松戸歯学部薬理学講座研究生.

安孫子 宜光 (Yoshimitsu Abiko)

昭和47年, 日本大学歯学部卒業. 昭和53年, 米国アラバマ大学客員講師(昭和55年迄). 平成4年日本大学教授(松戸歯学部. 生化学講座), 現在に至る.

平成9~10, 14年, 文部省学術審議会専門委員(科研費第一段審査担当委員).

平成18年, 文部省学術審議会専門委員(科研費第二段審査担当委員). 平成15~19年, 厚生労働省専門委員(歯科医師国家試験委員, 幹事委員). 平成17年, 日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員. 平成18年, 文部科学省大学設置・学校法人審議会専門委員(大学設置分科会). 中国第武漢大学口腔医学院客員教授, 名誉教授. 米国ルイジアナ州立大学医学センター研究教授. 中華民国台北医学大学客員教授. 日本歯科基礎医学会理事(1998~2000年), 編集委員(1995~1999年), 常任理事(2006~2012年). 日本生化学会評議員(1992年~). 国際歯科研究学会日本部会(JADR)理事(1999年~), 事務局長(2001~2002年), 会長(2002年~). 国際歯科研究学会(IADR)編集委員. Pan Asia Pacific Federation (PAPF) 会長(2004~2005年), Regional Board Member(2006~2008年). 日本歯周病学会理事(2005年~), 編集委員(2003年~). 日本レーザー歯学会評議員(2000~2001年), 理事(2001年~), 学術委員会副委員長(2003年~).